

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—166852

⑪ Int. Cl.³
G 01 N 27/30
27/46

識別記号

庁内整理番号
E 7363—2G
A 7363—2G

⑬ 公開 昭和59年(1984)9月20日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑭ バイオセンサ

⑮ 特 願 昭58—40885

⑯ 出 願 昭58(1983)3月11日

⑰ 発 明 者 河栗真理子

門真市大字門真1006番地松下電
器産業株式会社内

⑱ 発 明 者 南海史朗

門真市大字門真1006番地松下電
器産業株式会社内

⑲ 発 明 者 飯島孝志

門真市大字門真1006番地松下電
器産業株式会社内

⑳ 出 願 人 松下電器産業株式会社

門真市大字門真1006番地

㉑ 代 理 人 弁理士 中尾敏男 外1名

明 細 書

1、発明の名称

バイオセンサ

2、特許請求の範囲

絶縁性の基板上に端部を露出させて測定極と対極とを埋め込むとともに、前記両電極の露出部を覆うように多孔体を設置し、この多孔体中に少なくとも酸化還元酵素を含ませて構成し、前記多孔体に生体試料液を滴下することにより、試料中の基質濃度に応じた電流を上記2電極間で測定できるようにしたバイオセンサ。

3、発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は、簡易に生体試料中の特定成分を測定できるバイオセンサに関するものである。

従来例の構成とその問題点

最近、酵素を用いることにより、生体試料中の複雑な成分を酵素反応及び電極反応により特異的に測定できるバイオセンサが開発されている。グルコースセンサに例をとると、第1図のように、

グルコースオキシダーゼ固定化電極1に定電圧を印加し、流路2に緩衝液を流しながら試料液を添加し、電極1に流れる電流値により試料中のグルコース濃度を検知するフロー方式が開発されている。この方式は高速に精度よく測定できるが、装置が大型化してしまうという問題点があった。

そこで、第2図のように、グルコースオキシダーゼ固定化電極1を容器3に入れ、緩衝液4で満たし、スターラ5で攪拌している中に試料液を添加するいわゆるバッチ方式が考えられた。この方式により、かなり小型化できたが、緩衝液のとりかえが必要であり、又攪拌装置が不可欠なため攪拌によるアワの発生や液の乱れが起り、精度に影響するなどの問題点があった。又希釈しているため、緩衝液の量や試料の添加量に精度が要求され操作が複雑化する不都合があった。

発明の目的

本発明は、上記の問題点を克服し、小型で簡易に測定でき、しかも精度のよいバイオセンサを提供することを目的とする。

発明の構成

本発明のバイオセンサは、絶縁性の基板上に端部を露出させて測定極と対極とを埋め込み、前記両電極の露出部を覆うように多孔体を設置し、この多孔体に酸化還元酵素を含ませたことを特徴とする。

本発明のバイオセンサを用いれば、緩衝液を用いずに、酵素を含む多孔体に覆われた電極に試料液を添加して測定することができる。

実施例の説明

第3図は本発明の実施例のバイオセンサを示す。6は樹脂製の基板、7は測定極、8は対極であり、電極7、8はその端面が基板6上に露出するように基板6に埋め込まれている。9、10は電極7、8のリードである。11は電極7、8の露出面を覆うように設置した親水性の多孔体であり、これには測定対象物にのみ作用する酸化還元酵素が含まれている。この多孔体11に試料液を添加すると、酵素と反応し生成した過酸化水素や減少した酸素量を、上記2電極間に所定の電圧をかけて流

れる電流値を測定することにより検知し、基質の濃度を測定することができる。

上記の構成によれば、緩衝液を用いることなく、攪拌も必要ないので、装置が非常に簡略化されコンパクトになり、又液のとりかえや定量注液の操作がなくなり簡単に測定ができる。

次に、バイオセンサの1つとして、グルコースセンサについて具体例を説明する。

第3図において、測定極7および対極8に白金を用いた。電位を安定させるため、対極8の面積は測定極7の少なくとも2倍以上の面積にした。対極8に対し測定極7が+0.9Vになるよう設定した。この2つの電極を覆うように、グルコースオキシダーゼを含浸して乾燥したろ紙11を設置した。

グルコース標準液(0~300ppm/dL)を上記のろ紙に10μLずつ添加すると、グルコースオキシダーゼと反応し生成した過酸化水素が電極面で酸化され、その時の酸化電流のピーク値をとると第4図のAのようになり、グルコース濃度とよ

い直線関係を示した。測定は1回毎、ろ紙を取りかえればよいので、液交換の必要や、攪拌の手間が省けた。応答時間は、攪拌方式が5秒ぐらいなのに対し、15~20秒必要であるが、攪拌のためできたアワや液の乱れ、希釈誤差などがなくなり、精度よく簡易に測定ができた。

酵素反応で使われた酸素の減少量もグルコース濃度とよい直線性を示した。また、対極8を銀塩化銀にした場合も良好な結果が得られた。

ろ紙の代わりに、ポリカーボネート多孔体膜やガラス繊維、ガーゼなどを用いても、同様な結果が得られた。

グルコースオキシダーゼをろ紙に含浸した後、グルタルアルデヒド蒸気中で1時間固定化した。このろ紙を使用したところ、第4図のBのように、固定化しないろ紙を使った応答Aより電流値が低かったが、直線性は良く、又長期保存が可能となった。

2電極間7と8の電圧を0~+0.9Vの間で鋸歯状に1V/秒で変化させ、グルコース標準液(

0~300ppm/dL)10μLを添加した時流れる電流のピーク値を測定したところ、第4図のCのようになり、定電圧で測定したものより高く流れ、しかもグルコース濃度との直線性も良好であった。

本発明は、上記例のグルコースセンサに限らず、アルコールセンサや鮮度に関係するイノシンセンサなど、酸化還元酵素の関与する系に用いることができる。

発明の効果

本発明によれば、測定電極および対極からなる系に酸化還元酵素を含んだ多孔体を設置し、直接試料液を添加して測定することにより、攪拌が省略されて装置が小型化でき、製造が容易になる。又攪拌によるアワや液の乱れもなく、液の交換なども必要でなくなり、簡易に精度よく測定できるようになる。特にグルコースセンサについては、家庭で簡易に測定できる装置が望まれているので、非常に有用である。

4、図面の簡単な説明

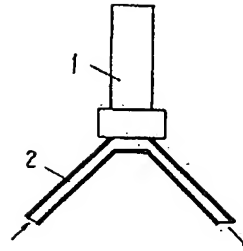
第1図は従来のフロー方式のグルコースセンサ

の構成を示す略図、第2図はパッチ方式のグルコースセンサの略図、第3図は本発明の一実施例のグルコースセンサの縦断面略図、第4図は同センサの応答例を示した図である。

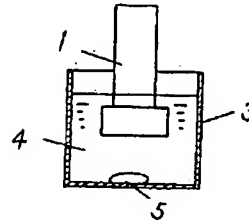
6……基板、7……測定極、8……対極、11……酵素を含んだ多孔体。

代理人の氏名 弁理士 中 尾 敏 男 ほか1名

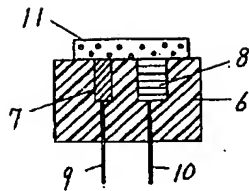
第 1 図



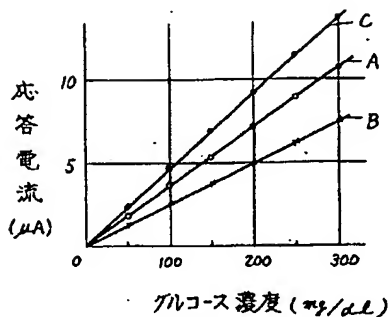
第 2 図



第 3 図



第 4 図



手続補正書

昭和 59 年 6 月 8 日

特許庁長官殿

1 事件の表示

昭和 58 年 特 許 願 第 40885 号

2 発明の名称

バイオセンサ

3 補正をする者

事件との関係

特 許 出 願 人

住 所 大阪府門真市大字門真1006番地

名 称 (582) 松下電器産業株式会社

代 理 者 山 下 俊 彦

4 代 理 人

〒 571

住 所 大阪府門真市大字門真1006番地

松下電器産業株式会社内

氏 名 (5971) 弁理士 中 尾 敏 男

(ほか 1 名)

(連絡先 電話(東京)437-1121 東京法務分室)

5 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄



e、補正の内容

(1) 明細書第2頁第12行の「攪拌装置」を「攪拌装置」と訂正します。

(2) 同第2頁第17行～第6頁第4行の記載を次のように訂正します。

「簡易型としては、尿検査の時に使用されている検査紙と同様に、スティック状の支持体に糖（グルコース）にのみ反応する酵素および酵素反応時又は酵素反応の生成物により変化する色素を含有する担体を設置したものがある。この担体に血液を添加し、一定時間後の色素の変化を目又は光により測定する方式であるが、血液中の色素による妨害が大きく精度が低いという問題があった。

発明の目的

本発明は、上記の問題点を克服し、小型で簡易に測定でき、しかも精度のよいバイオセンサを提供することを目的とする。

発明の構成

本発明のバイオセンサは、絶縁性の基板上に

端部を露出させて測定極と対極とを埋め込み、前記両電極の露出部を覆うように多孔体を設け、この多孔体に酸化還元酵素を含ませたことを特徴とする。

本発明のバイオセンサを用いれば、測定時に緩衝液を用いずに試料を希釈することなく、酵素を含む多孔体に覆われた電極に試料液のみ添加して測定することができる。

実施例の説明

実施例の

第3図は本発明のバイオセンサを示す。

6は樹脂製の基板、7は測定極、8は対極であり、電極7、8はその端面が基板6上に露出するように基板6に埋め込まれている。9、10は電極7、8のリードである。11は電極7、8の露出面を覆うように設置した親水性の多孔体であり、これには測定対象物にのみ作用する酸化還元酵素が含まれている。この多孔体11に試料液を添加すると、酵素の作用により基質と溶存酸素が反応し、生成した過酸化水素や減少した酸素量を、上記2電極間に所定の電圧を

かけて流れる電流値を測定することにより検知し、基質の濃度を測定することができる。

上記の構成によれば、緩衝液を用いることなく、攪拌も必要ないので、装置が非常に簡略化されコンパクトになり、又液のとりかえや定量注液の操作がなくなり簡単に測定ができる。

次に、バイオセンサの1つとして、グルコースセンサについて具体例を説明する。

第3図において、測定極7および対極8に白金を用いた。電位を安定させるため、対極8の面積は測定極7の少なくとも2倍以上の面積にした。対極8に対し測定極7が+0.9Vになるよう設定した。この2つの電極を覆うように、グルコースオキシダーゼをリン酸緩衝液に溶解したものを含浸して乾燥したろ紙11を設置した。

グルコース標準液（0～300mg/dl）を上記のろ紙に10μlずつ添加すると、グルコースオキシダーゼによりグルコースと酸素が反応し、生成した過酸化水素が電極面で酸化され、

その時の酸化電流のピーク値をとると第4図のAのようになり、グルコース濃度とよい直線関係を示した。なお、添加するグルコース標準液の量を10μl～50μlの間で変化させたと、液量に関係なく酸化電流値は同じ値を示した。測定は1回毎、ろ紙を取りかえればよいので、液交換の必要や、攪拌の手間が省けた。応答時間は、攪拌方式が5秒ぐらいなのに対し、15～20秒必要であるが、攪拌のためにできたアワや液の乱れ、希釈誤差などがなくなり、精度よく簡易に測定できた。

酵素反応で使われた酸素の減少量もグルコース濃度とよい直線性を示した。また、対極8を銀塩化銀にした場合も良好な結果が得られた。

ろ紙の代わりに、ポリカーボネート多孔体膜やガラス繊維、ガーゼ、バルブの不織布、ナイロン不織布、セラミック多孔体、ガラスの多孔体など親水性の多孔体膜を用いても、同様な結果が得られた。

なお親水性の多孔体においても界面活性剤で

処理することにより使用することができる。

グルコースオキシダーゼ溶液をろ紙に含浸した後、グルタルアルデヒド蒸気中で1時間固定化した。このろ紙を使用し前記同様の条件で測定したところ、第4図のBのように、固定化しないろ紙を使った応答Aより電流値が低かったが、直線性は良く、又長期保存が可能となった。

2電極間7と8の電圧を0～+0.9Vの間で鋸歯状に1V/secで変化させ、グルコース標準液(0～300mg/dl)10 μ lを添加した時流れる電流のピーク値を測定したところ、第4図Cのようになり、定電圧で測定して得られたピーク電流値より高く流れ、しかもグルコース濃度との直線性も良好であった。」